

Unexamined Japanese Patent Publication 2002-155023

(57) Abstract

[Object] An object of the invention is to provide a compound usable in determining PCBs using ELISA, which is rapid, easy and inexpensive, and can replace the conventional complicated methods of measuring PCBs.

[Means for solving the problems] A substituted phenoxy compound of a formula (1)

[Compound 1]

(wherein R^1 and R^2 represent lower alkyl, R^3 represents hydrogen or lower alkyl, R^4 represents alkyl, aryl, hydrogen or succinimidyl, and m is an integer of 5 to 7) can be used as a reagent for ELISA to determine PCBs when bound to BSA and the like.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2002-155023
(P2002-155023A)

(43) 公開日 平成14年5月28日 (2002.5.28)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

特許出願公開番号

C 0 7 C 59/68

C 0 7 C 59/68

4 C 0 6 9

69/736

69/736

4 H 0 0 6

C 0 7 D 207/46

C 0 7 D 207/46

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2000-355882(P2000-355882)

(71) 出願人 000237204

(22) 出願日 平成12年11月22日 (2000.11.22)

富士レビオ株式会社

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号

(72) 発明者 小林 久子

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号

富士レビオ株式会社内

(72) 発明者 丹羽 敏博

東京都中央区日本橋浜町2丁目62番5号

富士レビオ株式会社内

(74) 代理人 100098431

弁理士 山中 郁生 (外3名)

Fターム(参考) 4C069 AC36

4H006 AA01 AB80 BJ50 BP30 BS10

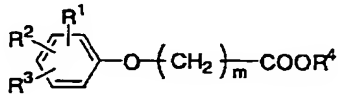
(54) 【発明の名称】 置換フェノキシ化合物

(57) 【要約】

【課題】 従来の煩雑なPCBの測定法に替わる迅速且つ簡便、低コストのPCBの酵素免疫測定法に用いられる化合物の提供。

【解決手段】 一般式

【化1】

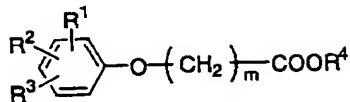


(式中、R¹およびR²は低級アルキル基、R³は水素原子または低級アルキル基、R⁴はアルキル基、アリール基、水素原子またはスクシンイミジル基、mは5ないし7の整数である。)で表される置換フェノキシ化合物は、BSAなどと結合させて、PCBを測定する際の酵素免疫測定試薬として用いることができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式

【化1】



で表される置換フェノキシ化合物（式中、 R^1 および R^2 は低級アルキル基、 R^3 は水素原子または低級アルキル基、 R^4 はアルキル基、アリアル基、水素原子またはスクシンイミジル基、 m は5ないし7の整数である。）。

【請求項2】 R^4 が水素原子である請求項1に記載の化合物。

【請求項3】 R^4 がアルキル基である請求項1に記載の化合物。

【請求項4】 アルキル基が低級アルキル基である請求項3に記載の化合物。

【請求項5】 R^4 がスクシンイミジル基である請求項1に記載の化合物。

【請求項6】 m が5である請求項1ないし5のいずれか1項に記載の化合物。

【請求項7】 R^1 および R^2 がメチル基、 R^3 が水素原子である請求項1ないし6のいずれか1項に記載の化合物。

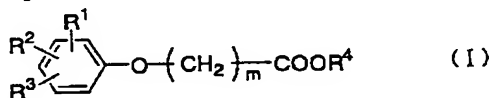
【請求項8】 R^1 、 R^2 および R^3 がメチル基である請求項1ないし6のいずれか1項に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、一般式

【化2】



（式中、 R^1 および R^2 は低級アルキル基、 R^3 は水素原子または低級アルキル基、 R^4 はアルキル基、アリアル基、水素原子またはスクシンイミジル基、 m は5ないし7の整数である。）で表される置換フェノキシ化合物であり、PCBを酵素免疫測定法で測定する際の試薬として使用できる。

【0002】

【従来の技術】置換フェノキシ化合物は、新規な化合物であり、かつ、この化合物がPCBを測定するための試薬として有用である、ということは全く知られていなかった。

【0003】従来、PCBは、ガスクロマトグラフィーとマススペクトロメトリーとを一体化した機器等を用いて測定していたが、これらの測定機器は大変高価であり、また、サンプルが土や水の場合は、これら機器測定前に濃縮操作を行わねばならず、煩雑であった。これら

の問題は酵素免疫測定法を採用することで解決することができた。この方法は、迅速かつ簡便、低コストで高感度測定ができる。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、酵素免疫測定法でなしえなかったPCBの測定に有用な試薬を提供することが課題である。

【0005】

【課題を解決するための手段】かかる課題を解決するため本発明者らは、新規な前記一般式（I）で表される置換フェノキシ化合物を見出した。本発明の前記一般式

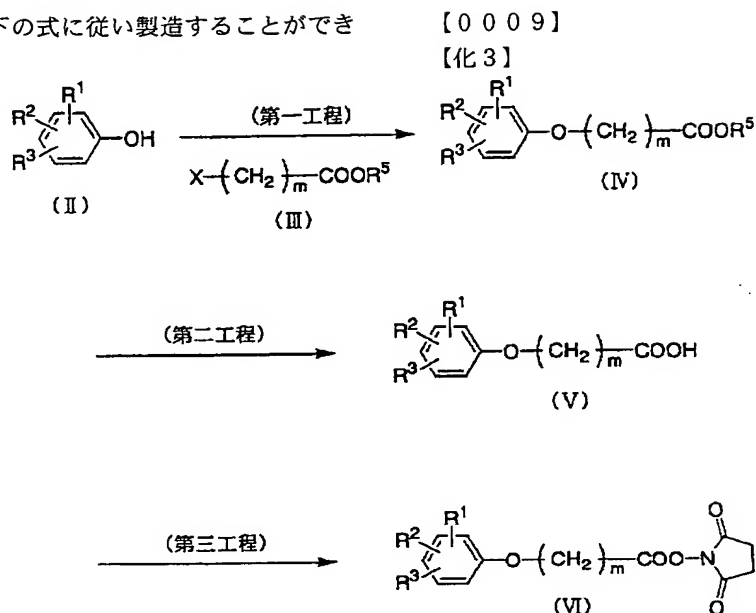
（I）で表される置換フェノキシ化合物は、PCBを酵素免疫測定法により広汎に測定できる化合物である。

【0006】以下、本発明を詳細に説明するにあたって、「アルキル基」としては、炭素原子数1～12の直鎖状、分枝鎖状または環状のアルキル基のいずれでもよく、例えば、メチル基、エチル基、 n -プロピル基、1-メチルエチル基、シクロプロピル基、 n -ブチル基、2-メチルプロピル基、1-メチルプロピル基、1,1-ジメチルエチル基、シクロブチル基、 n -ペンチル基、3-メチルブチル基、シクロペンチル基、2,2-ジメチルプロピル基、1-メチルシクロブチル基、シクロブチルメチル基、 n -ヘキシル基、4-メチルペンチル基、シクロヘキシル基、1-メチルシクロペンチル基、シクロペンチルメチル基、（1-メチルシクロブチル）メチル基、 n -ヘプチル基、5-メチルヘキシル基、4,4-ジメチルペンチル基、シクロヘプチル基、シクロヘキシルメチル基、（1-メチルシクロペンチル）メチル基、 n -オクチル基、6-メチルヘプチル基、5,5-ジメチルヘキシル基、（1-メチルシクロヘキシル）メチル基、 n -ノニル基、7-メチルオクチル基、6,6-ジメチルヘプチル基、 n -デシル基、8-メチルノニル基、7,7-ジメチルオクチル基、 n -インデカシル基、9-メチルデシル基、8,8-ジメチルノニル基、 n -ドデカシル基、10-メチルウンデカシル基、9,9-ジメチルデカシル基等を挙げることできる。また、「低級アルキル基」としては、前記アルキル基のうち、炭素原子数1～6の直鎖状、分枝鎖状又は環状のアルキル基を挙げるができる。

【0007】「アリアル基」としては、単環式または多環式であり、さらに環上に1個以上の種々の置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基をいい、例えば、フェニル、メチルフェニル、ジメチルフェニル、メトキシフェニル、ジメトキシフェニル、ニトロフェニル、ジニトロフェニル、クロロフェニル、ジクロロフェニル、プロモフェニル、ジプロモフェニル、ヨードフェニル、フルオロフェニル、トリフルオロメチルフェニル、アミノフェニル、ヒドロキシフェニル、メルカプトフェニル、 α -ナフチル、 β -ナフチル基等を挙げるができる。

【0008】本発明の前記一般式（I）で表される置換

フェノキシ化合物は以下の式に従い製造することができる。



【0010】（式中、 R^1 および R^2 は低級アルキル基、 R^3 は水素原子または低級アルキル基、 R^5 はアルキル基またはアリール基、 m は5ないし7の整数である。Xはハロゲン原子である。）

【0011】（第一工程）本工程は、前記一般式（IV）で表されるエステル誘導体を、一般式（II）で表される置換フェノールと一般式（III）で表されるハロ脂肪酸エステルとを塩基の存在下、反応させることにより製造する工程である。

【0012】前記一般式（II）で表される置換フェノールとしては、たとえば、ジメチルフェノール、トリメチルフェノール、ジエチルフェノール、トリエチルフェノール、エチルメチルフェノール、エチルジメチルフェノール、ジエチルメチルフェノール等を挙げることができる。また、一般式（III）で表されるハロ脂肪酸エステルとしては、たとえば、6-ブロモヘキサン酸エチル、6-ブロモヘキサン酸メチル、6-ブロモヘキサン酸 t -ブチル、7-ブロモヘプタン酸エチル、7-ブロモヘプタン酸メチル、7-ブロモヘプタン酸 t -ブチル、8-ブロモオクタン酸エチル、8-ブロモオクタン酸メチル、8-ブロモオクタン酸 t -ブチル、6-クロロヘキサン酸エチル、6-クロロヘキサン酸メチル、6-クロロヘキサン酸 t -ブチル、7-クロロヘプタン酸エチル、7-クロロヘプタン酸メチル、7-クロロヘプタン酸 t -ブチル、8-クロロオクタン酸エチル、8-クロロオクタン酸メチル、8-クロロオクタン酸 t -ブチルなどを使用することができる。

【0013】本工程は、塩基の存在下に行うものである。使用できる塩基としては、たとえば、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、ナトリウム t -ブトキシド、カリウム t -ブトキシドなどのアルカリ金属ア

ルコキシド、ジエトキシマグネシウムなどのアルカリ土類金属アルコキシド、水素化リチウム、水素化ナトリウム、水素化カリウムなどのアルカリ金属水素化合物、水素化カルシウムなどのアルカリ土類金属水素化合物、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなどのアルカリ金属炭酸塩等を挙げることができる。反応は、不活性溶媒中で行うことが望ましく、たとえばテトラヒドロフラン、ジオキサン、1, 2-ジメトキシエタン等のエーテル類、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等のアミド類を挙げることができる。反応温度は、 $-20 \sim 40^\circ\text{C}$ で実施することができる。

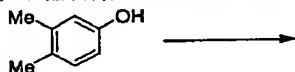
【0014】（第二工程）本工程は、一般式（IV）で表される化合物に対し、塩基性条件下、酸性条件下または中性条件下において加水分解を行い、一般式（V）で表されるカルボン酸誘導体を製造する工程である。

【0015】塩基性条件下で用いる試薬としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどのアルカリ金属水素化合物、水酸化カルシウム、水酸化バリウムなどのアルカリ土類金属水素化合物、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなどのアルカリ金属炭酸塩、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、ナトリウム t -ブトキシド、カリウム t -ブトキシドなどのアルカリ金属アルコキシド、トリエチルアミン、イミダゾール、アミジン、DBU（1, 5-ジアザビシクロ[5, 4, 0]ウンデカ-5-エン）、DBN（1, 5-ジアザビシクロ[4, 3, 0]ノナ-5-エン）などの有機塩等を挙げることができる。塩基性条件下で用いる溶媒としては、エタノール、メタノール、エチレングリコール等のアルコール類、水、ジメチルスルホキシド等を挙げることができる。また、酸性条件下で用いる試薬としては、塩酸、臭

化水素酸、硫酸、燐酸などの鉱酸、酢酸、ぎ酸、トリフルオロ酢酸、p-トルエンスルホン酸などの有機酸、三臭化ホウ素、三塩化ホウ素などのルイス酸、陽イオン交換樹脂等を挙げることができ、中性条件下で用いる試薬としては、ヨウ化リチウム、臭化リチウム、シアン化ナトリウム、チオール類のアルカリ塩等を挙げるができる。酸性または中性条件下で用いる試薬としては、ピリジン、ルチジン、コリジン、ジメチルホルムアミド、ヘキサメチルホスホリクトリアミドなどのアミド類、ジメチルスルホキシド、アルコール類、アセトン、水等を挙げるができる。反応温度は、20℃から加熱還流することにより実施できる。

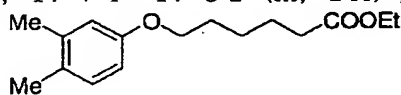
【0016】(第三工程)本工程は、一般式(V)で表わされるカルボン酸誘導体に対し縮合剤の存在下、N-ヒドロキシスクシンイミドと反応させ一般式(VI)で表わされるスクシンイミジル誘導体を製造する工程である。

【0017】この工程で使用する縮合剤としては、例え



【0021】3,4-ジメチルフェノール366mg (3.0mmol)の無水ジメチルホルムアミド溶液(10ml)に炭酸カリウム455mg (3.3mmol)、6-ブロモヘキサン酸エチル669mg (3.0mmol)を加え、室温で24時間攪拌した。反応終了後、10%クエン酸水溶液で弱酸性とした後、酢酸エチルで抽出し、50%炭酸カリウム水溶液、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン-酢酸エチル=50:1)で精製し、6-(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチル475mg(収率60.0%)を得た。

【0022】¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): δ 1.26 (t, J=7.1Hz, 3H), 1.44~1.54 (m, 2H), 1.65~1.74 (m, 2H), 1.74~1.82 (m, 2H), 2.



【0025】6-(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチル313mg (1.18mmol)をエタノール5mlに溶解し、4N水酸化リチウム水溶液1ml (4.0mmol)を加え、室温で14時間攪拌した。反応終了後、反応液を減圧下濃縮し10%クエン酸で酸性とした。析出した結晶を濾取し、精製水、ヘキサンにて洗浄後減圧下乾燥し、6-(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸274mg(収率98.8%)を得た。

【0026】mp: 105.0~106.5℃

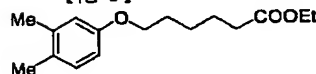
ば、ジシクロヘキシルカルボジイミド、塩酸1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド、ジイソプロピルカルボジイミド、ベンゾトリアゾリル-N-ヒドロキシトリスジメチルアミノホスホニウムヘキサフルオロリン化物塩、ジフェニルホスホリルアジド等を挙げるができる。反応は、不活性溶媒中で行うことが望ましく、たとえばジクロロメタン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素、テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル類、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドンなどのアミド類等を挙げるができる。反応温度は、-10~40℃で実施することができる。

【0018】以下、参考例及び実施例により本発明をさらに詳細を説明する。

【0019】実施例1 6-(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチルの合成

【0020】

【化4】



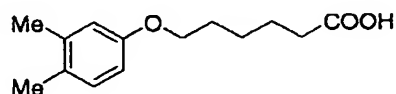
1.8 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.33 (t, J=7.5Hz, 2H), 3.92 (t, J=6.5Hz, 2H), 4.13 (q, J=7.1Hz, 2H), 6.63 (dd, J=8.2 and 2.7Hz, 1H), 6.70 (d, J=2.7Hz, 1H), 7.01 (d, J=8.2Hz, 1H) ppm.

IR (liquid film): 2944, 1740, 1612, 1306, 1256, 1166 cm⁻¹
Mass (m/z, %): 264 (M⁺, 44), 143 (83), 122 (100), 97 (34), 69 (36).

【0023】実施例2 6-(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸の合成

【0024】

【化5】

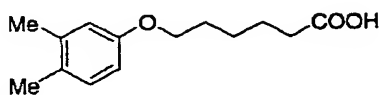


¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): δ 1.48~1.57 (m, 2H), 1.67~1.83 (m, 4H), 2.19 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.39 (t, J=7.4Hz, 2H), 3.93 (t, J=6.4Hz, 2H), 6.63 (dd, J=8.2 and 2.7Hz, 1H), 6.70 (d, J=2.7Hz, 1H), 7.01 (d, J=8.2Hz, 1H) ppm.

IR (KBr): 3050, 2948, 1716, 1616, 1506, 1254, 1206, 1124, 10

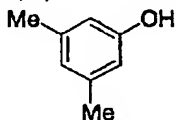
20 cm⁻¹Mass (m/z, %): 236 (M⁺, 72), 122 (100), 107 (51).

【0027】実施例3 N-スクシンイミジル-6-



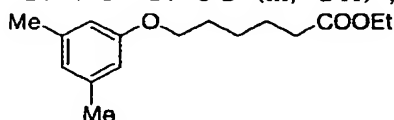
【0029】6-(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸1.04g(4.42mmol)の無水ジクロロメタン溶液(20ml)にN-ヒドロキシスクシンイミド560mg(4.86mmol)、塩酸1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド932mg(4.86mmol)を加え、室温で3日間攪拌した。反応終了後、10%クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン-酢酸エチル=1:1)で精製し、エーテル-ヘキサン-酢酸エチルから再結晶しN-スクシンイミジル-6-(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサノエート1.28g(収率87.0%)を得た。

【0030】mp: 84.0~85.0℃

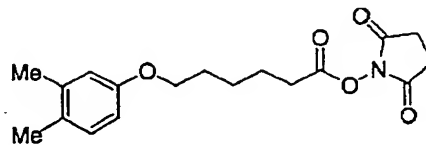
¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): δ 1.55~1.64(m, 2H), 1.77~1.87(m,

【0033】3,5-ジメチルフェノール366mg(3.0mmol)の無水ジメチルホルムアミド溶液(10ml)に炭酸カリウム455mg(3.3mmol)、6-ブロモヘキサン酸エチル669mg(3.0mmol)を加え、室温で24時間攪拌した。反応終了後、10%クエン酸水溶液で弱酸性とした後、酢酸エチルで抽出し、50%炭酸カリウム水溶液、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン-酢酸エチル=50:1)で精製し、6-(3,5-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチル433mg(収率54.5%)を得た。

【0034】¹H-NMR(400MHz, CDCl₃): δ 1.26(t, J=7.1Hz, 3H), 1.45~1.55(m, 2H), 1.65~1.74(m, 2H), 1.74~1.82(m, 2H), 2.



(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサノエートの合成【0028】
【化6】



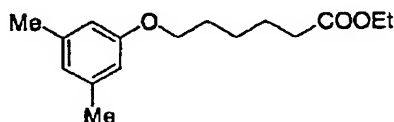
4H), 2.19(s, 3H), 2.23(s, 3H), 2.65(t, J=7.5Hz, 2H), 2.84(bs, 4H), 3.94(t, J=6.3Hz, 2H), 6.64(dd, J=8.2 and 2.7Hz, 1H), 6.71(d, J=2.7Hz, 1H), 7.01(d, J=8.2Hz, 1H) ppm.

IR(KBr): 2952, 1812, 1784, 1740, 1622, 1506, 1202, 1066 cm⁻¹Mass(m/z, %): 333(M⁺, 73), 219(48), 122(100), 97(36), 69(28).

【0031】実施例4 6-(3,5-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチルの合成

【0032】

【化7】



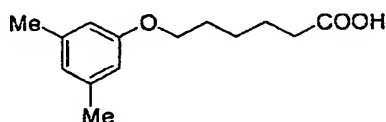
28(s, 6H), 2.33(t, J=7.5Hz, 2H), 3.92(t, J=6.4Hz, 2H), 4.13(q, J=7.1Hz, 2H), 6.52(s, 2H), 6.58(s with fine coupling, 1H) ppm.

IR(liquid film): 2948, 1740, 1616, 1596, 1470, 1324, 1296, 1158 cm⁻¹Mass(m/z, %): 264(M⁺, 45), 143(74), 122(100), 97(30), 69(27).

【0035】実施例5 6-(3,5-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸の合成

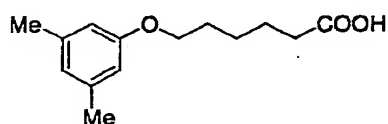
【0036】

【化8】



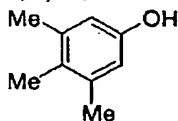
【0037】6-(3,5-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチル170mg (0.64mmol)をエタノール5mlに溶解し、4N水酸化リチウム水溶液4ml (4.0mmol)を加え、室温で14時間撹拌した。反応終了後、反応液を減圧下濃縮し10%クエン酸で酸性とした。析出した結晶を濾取し、精製水、ヘキサンにて洗浄後減圧下乾燥し、6-(3,5-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸136mg (収率90.1%)を得た。

【0038】mp: 73.0~74.0℃
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ 1.48~1.57 (m, 2H), 1.67~1.83 (m, 4H), 2.27 (s, 6H), 2.40 (t, J=



【0041】6-(3,5-ジメチルフェノキシ)ヘキサン酸746mg (3.16mmol)の無水ジクロロメタン溶液(20ml)にN-ヒドロキシスクシンイミド400mg (3.47mmol)塩酸1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド666mg (3.47mmol)を加え、室温で3日間撹拌した。反応終了後、10%クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン-酢酸エチル=1:1)で精製し、エーテル-ヘキサンから再結晶しN-スクシンイミジル-6-(3,5-ジメチルフェノキシ)ヘキサノエート686mg (収率65.2%)を得た。

【0042】mp: 73.0~74.0℃
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ 1.54~1.63 (m, 2H), 1.77~1.87 (m,



【0045】アルゴン気流下、3,4,5-トリメチルフェノール681mg (5.0mmol)の無水ジメチルホルムアミド溶液(15ml)に60%油性水素化ナトリウム200mg (5.0mmol)を加え、室温で15分間撹拌した。続いて6-ブロモヘキサン酸エチル1.34g (5.1mmol)を加え、室温で18時間撹拌した。反応終了後、10%クエン酸水溶液で弱酸性とした後、酢酸エチルで抽出し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン-酢酸エチル=15:

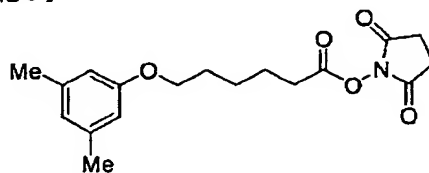
7.5Hz, 2H), 3.93 (t, J=6.4Hz, 2H), 6.52 (s with fine coupling, 2H), 6.58 (s with fine coupling, 1H) ppm.

IR (KBr): 3050, 2948, 1720, 1594, 1476, 1322, 1294, 1168, 1066 cm⁻¹

Mass (m/z, %): 236 (M⁺, 23), 122 (100), 107 (18).

【0039】実施例6 N-スクシンイミジル-6-(3,5-ジメチルフェノキシ)ヘキサノエートの合成
 【0040】

【化9】



4H), 2.28 (s, 6H), 2.65 (t, J=7.4Hz, 2H), 2.84 (bs, 4H), 3.94 (t, J=6.3Hz, 2H), 6.52 (bs, 2H), 6.58 (s with fine coupling, 1H) ppm.

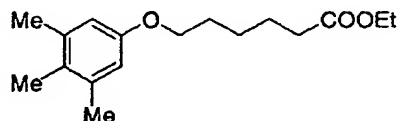
IR (KBr): 2940, 1816, 1790, 1746, 1594, 1326, 1294, 1212, 1158, 1062 cm⁻¹

Mass (m/z, %): 333 (M⁺, 69), 219 (52), 122 (100), 97 (31), 69 (28).

【0043】実施例7 6-(3,4,5-トリメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチルの合成

【0044】

【化10】

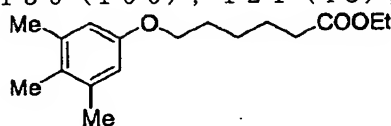


1)で精製し、6-(3,4,5-トリメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチル1.23g (収率88.2%)を得た。

【0046】¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ 1.25 (t, J=7.1Hz, 3H), 1.44~1.53 (m, 2H), 1.65~1.73 (m, 2H), 1.74~1.81 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.25 (s, 6H), 2.32 (t, J=7.5Hz, 2H), 3.91 (t, J=6.4Hz, 2H), 4.13 (q, J=7.1Hz, 2H), 6.57 (s, 2H) ppm.

IR (liquid film) : 2952, 1740, 1608, 1490, 1318, 1202, 1148, 1060 cm^{-1}

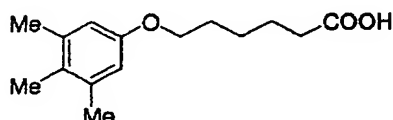
Mass (m/z, %) : 278 (M^+ , 46), 143 (96), 136 (100), 121 (43), 97



【0049】6-(3,4,5-トリメチルフェノキシ)ヘキサン酸エチル792mg (2.84mmol)をエタノール10mlに溶解し、4N水酸化リチウム水溶液2.13ml (8.53mmol)を加え、60℃で2.5時間撹拌した。反応終了後、反応液を減圧下濃縮し10%クエン酸で酸性とした。析出した結晶を濾取し、エーテル-ヘキサンから再結晶し6-(3,4,5-トリメチルフェノキシ)ヘキサン酸561mg (収率78.7%)を得た。

【0050】mp : 77.0~78.0℃

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 1.48~1.57 (m, 2H), 1.67~1.75 (m, 2H), 1.75~1.82 (m, 2H), 2.09



【0053】6-(3,4,5-トリメチルフェノキシ)ヘキサン酸375mg (1.5mmol)の無水ジクロロメタン溶液(10ml)にN-ヒドロキシスクシンイミド207mg (1.8mmol)塩酸1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド345mg (1.8mmol)を加え、室温で18時間撹拌した。反応終了後、10%クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。エーテル-酢酸エチル-ヘキサンから再結晶しN-スクシンイミジル-6-(3,4,5-トリメチルフェノキシ)ヘキサノエート402mg (収率77.2%)を得た。

【0054】mp : 91.5~92.0℃

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) : δ 1.50~1.63 (m, 2H), 1.76~1.87 (m, 4H), 2.09 (s, 3H), 2.25 (s, 6H), 2.64 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 2.84 (bs, 4H), 3.93 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 2H), 6.57 (s, 2H) ppm.

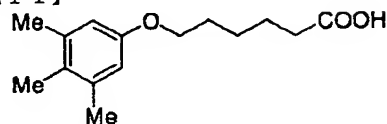
IR (KBr) : 2944, 1822, 1784, 1756, 1604, 1318, 1218, 1148, 1080 cm^{-1}

(35), 69 (36).

【0047】実施例8 6-(3,4,5-トリメチルフェノキシ)ヘキサン酸の合成

【0048】

【化11】



(s, 3H), 2.25 (s, 6H), 2.39 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 3.92 (t, $J=6.4\text{Hz}$, 2H), 6.57 (s, 2H) ppm.

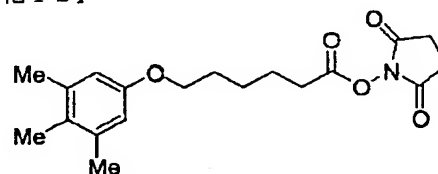
IR (KBr) : 3044, 2932, 1712, 1606, 1490, 1322, 1230, 1150, 1060 cm^{-1}

Mass (m/z, %) : 250 (M^+ , 41), 136 (100), 121 (28).

【0051】実施例9 N-スクシンイミジル-6-(3,4,5-トリメチルフェノキシ)ヘキサノエートの合成

【0052】

【化12】



Mass (m/z, %) : 347 (M^+ , 77), 233 (45), 136 (100), 121 (26), 97 (26), 69 (21).

【0055】参考例1 ウシ血清アルブミン (BSA) 結合 3,4-ジメチルフェノキシ誘導体の合成
ウシ血清アルブミン 5.0mgを 0.1Mのリン酸緩衝液 (pH7.5) 900 μl に溶解し、N-スクシンイミジル-6-(3,4-ジメチルフェノキシ)ヘキサノエート 1.0mgの無水ジメチルホルムアミド溶液 100 μl を加え、室温で5時間撹拌した。その後反応液をPBS中で透析し脱塩して、標記BSA結合 3,4-ジメチルフェノキシ誘導体を得た。

【0056】参考例2 ウシ血清アルブミン結合 3,4-ジメチルフェノキシ誘導体感作粒子の作成

カルボキシル化粒子 (日本ペイント社製) を 0.1Mリン酸緩衝液 (pH5.0) にて 3回洗浄し、同緩衝液 1ml にて懸濁後、5~40 $\mu\text{g/ml}$ に調整した参考例1で作成したBSA結合 3,4-ジメチルフェノキシ誘導体溶液 1ml を添加し 25℃ 2時間、ローターにて回転反応させた。粒子洗浄後、0.05Mメス緩衝液 (pH5.5) 1ml に懸濁し、80mg/ml の 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピ

ル) カルボジイミド塩酸塩 (ナカライタスク社製) 水溶液を $50\mu\text{l}$ 添加して、ローテーターで 25°C 30分回転反応させた。粒子を洗浄後、ポストコート緩衝液を 2ml 添加しローテーターで 37°C 一晚回転反応させた。粒子を洗浄後、粒子濃度を 1.5% に合わせてウシ血清アルブミン結合 3, 4-ジメチルフェノキシ誘導体感作粒子を得た。

【0057】参考例3 アルカリフォスファターゼ (ALP) 標識抗PCB#126 (3, 3', 4, 4', 5-ペンタクロロビフェニル) 抗体の作成

抗PCB#126モノクローナル抗体 (PCB77A抗体; KRI社製) を用い、マレイミド法にてアルカリフォスファターゼ (オリエンタル社製) を結合しALP標識抗PCB#126抗体を得た。

【0058】参考例4 PCB#126の測定

PCB#126の測定は、全自動化学発光免疫測定システム (ルミパルス f; 富士レビオ社製) を用いた 1ステップ競合法にて行った。参考例2で作成したウシ血清アルブミン結合 3, 4-ジメチルフェノキシ誘導体感作粒子液 $150\mu\text{l}$ に PCB#126の標準抗原液 $90\mu\text{l}$ と ALP標識抗PCB#126抗体液 $50\mu\text{l}$ を加え、 37°C 20分間免疫反応を行い、洗浄後基質 (AMPPD) 液 $200\mu\text{l}$ を加えて 37°C 5分間酵素反応を行い、その後発光量を測定した。

【0059】前記PCB#126の標準抗原液は、PCB#126 (ジールサイエンス社製) を 10% ジメチルスルホキシド溶液に溶解し、 $0\sim 10\text{ng/ml}$ の濃度に調整したものを用いた。標準抗原0濃度のカウント値を 100% としたときの各標準抗原液の応答 (B/B0 (%)) により標準曲線を求めた。その結果を図1に示す。

【0060】参考例5 アルカリフォスファターゼ (ALP) 標識抗PCB#169 (3, 3', 4, 4',

5, 5'-ヘキサクロロビフェニル) 抗体の作成

抗PCB#169モノクローナル抗体 (PCB169E抗体; KRI社製) を用い、マレイミド法にてアルカリフォスファターゼ (オリエンタル社製) を結合しALP標識抗PCB#169抗体を得た。

【0061】参考例6 PCB#169の測定

PCB#169の測定は、全自動化学発光免疫測定システム (ルミパルス f; 富士レビオ社製) を用いた 1ステップ競合法にて行った。参考例2で作成したウシ血清アルブミン結合 3, 4-ジメチルフェノキシ誘導体感作粒子液 $150\mu\text{l}$ に PCB#169の標準抗原液 $90\mu\text{l}$ と ALP標識抗PCB#169抗体液 $50\mu\text{l}$ を加え、 37°C 20分間免疫反応を行い、洗浄後基質 (AMPPD) 液 $200\mu\text{l}$ を加えて 37°C 5分間酵素反応を行い、その後発光量を測定した。

【0062】前記PCB#169の標準抗原液は、PCB#169 (ジールサイエンス社製) を 10% ジメチルスルホキシド溶液に溶解し、 $0\sim 10\text{ng/ml}$ の濃度に調整したものを用いた。標準抗原0濃度のカウント値を 100% としたときの各標準抗原液の応答 (B/B0 (%)) により標準曲線を求めた。その結果を図2に示す。

【0063】

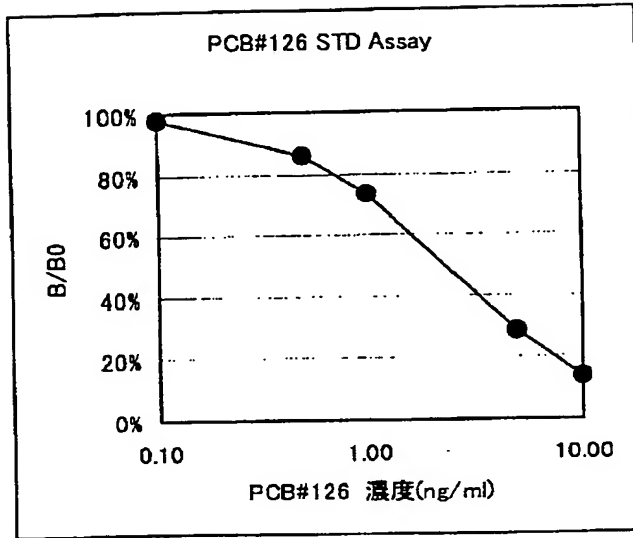
【発明の効果】本発明の一般式 (I) で表される置換フェノキシ化合物は、PCBを測定するための試薬として有用である。本発明の一般式 (I) で表される置換フェノキシ化合物は、例えばBSAと結合させて、酵素免疫測定法によるPCBの測定に用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】PCB#126を測定したときの標準曲線を示す。

【図2】PCB#169を測定したときの標準曲線を示す。

【図1】



【図2】

